

## ASPECTOS BACTERIOLOGICOS Y EPIDEMIOLOGICOS DE *PSEUDOMONAS AERUGINOSA* EN NUESTRO MEDIO

*Auramarina Villalobos de Roldán\**

*Maricela Urbina\**

*Alfredo Villalobos C.\**

### RESUMEN:

Se practicó el estudio de algunos aspectos bacteriológicos y epidemiológicos a 45 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas de diversas muestras clínicas. A todas las cepas aisladas se les practicó pyocinotipia y serotipia. Con la pyocinotipia siguiendo la técnica de Guillies y Govan se logró el tipiaje del 86% de ellas, encontrándose 8 pyocino tipos diferentes. Para la serotipia se siguió la técnica de Habs, completada por el Sub-Comité Internacional de Pseudomonas, utilizando antisueros comerciales elaborados por el Instituto Pasteur de París. Con este método se logró el tipiaje del 86.67% de las cepas, encontrándose 10 serotipos diferentes. Al correlacionar la serotipia con la pyocinotipia, se observó que el 100% de las cepas pudo ser tipiada, usando ambos métodos. Notándose que todas las cepas no tipiables por serotipia, correspondieron al pyocinotipo 1,. A las cepas también se les practicó la prueba de susceptibilidad a 4 agentes antimicrobianos, según el

\*Profesores de la Cátedra de Microbiología - Escuela de Medicina - Facultad de Medicina. Universidad del Zulia.

método de Bauer-Kirby, observándose que Amikacina y Colimicina representaron los de mayor efecto "in vitro", mientras que con Tobramicina y Sisomicina observamos un 13.33% de resistencia.

#### ABSTRACT:

These authors studied the bacteriological and epidemiological aspects from 45 strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Pyocine-typing and serotyping were practiced in all strains. Following the Gillies and Govan's technique 86% of the sample were typed, finding 8 different pyocin Sub-Committee for *Pseudomonas* was followed commercially available antiserum were used for typing 86.6% of the strains, finding 10 different serotypes. Correlating both techniques we found that 10% of the strains could be classified. The non typed strains by serotyping were classified as a pyocinotype 1. The samples were submitted to the Bauer-Kirby susceptibility tests with four antimicrobial agents, among them, Amikacin and Colimicin, showed the mayor susceptibility "in vitro", whereas Tobramycin and Sisomicin showed 13.33% of resistance.

#### INTRODUCCION:

Existe una alta incidencia de infecciones nosocomiales causadas por *Pseudomonas aeruginosa* (3, 6, 14, 18, 20, 23, 38, 40, 44, 46, 48, 50), sobre todo en pacientes sometidos a procedimientos diagnósticos y/o terapéuticos modernos, en individuos comprometidos desde el punto de vista inmunológico y en aquellos que reciben irracionalmente antimicrobianos, lo cual les produce alteración de la flora microbiana normal (1, 12, 19, 36, 41, 42, 51, 52).

Este microorganismo se caracteriza por ser saprofito y estar ampliamente distribuido en la naturaleza, sobre todo en lugares húmedos. Se ha podido aislar en muestras de agua destilada, lavamanos de hospitales, agua de incubadoras en uso, etc. (4, 35). Es resistente a varios desinfectantes y preservativos comúnmente empleados y finalmente ha desarrollado resistencia a la mayoría de los antimicrobianos de uso frecuente en clínica, siendo agente causal de infecciones refractarias al tratamiento antimicrobiano convencional (20, 28, 34, 58).

Conociendo todas estas condiciones, en los últimos años se han venido creando y estudiando diversas técnicas y procedimientos de laboratorio, para trazar infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa*, sobre todo las intrahospitalarias o nosocomiales, de allí que en el laboratorio contamos con varios procedimientos para realizar este tipo de estudio epidemiológico como son: la serotipia, la pyocinotipia y la lisotipia, métodos éstos que tienen por finalidad clasificar las cepas de *Pseudomonas aeruginosa* en tipos o grupos (7, 9, 10, 11, 16, 18, 21, 24, 25, 26, 35, 37, 39, 43, 46, 47, 49, 50, 55, 56, 59, 60).

La lisotipia a pesar de ser un medio bastante efectivo de diferenciación, presenta el inconveniente de la inestabilidad de los patrones de lisis, haciéndose en ocasiones difícil la interpretación de los resultados, de allí que se recomienda su combinación con la pyocinotipia y/o la serotipia (7, 11, 16, 17, 49, 56, 59, 60).

La serotipia tiene el inconveniente de la preparación de antisueros, además de que el número de serotipos es insuficiente para la precisión que se requiere en este tipo de estudio epidemiológico, lo cual limita su valor (7, 11, 16, 17, 49, 59, 60).

La pyocinotipia constituye un procedimiento más reciente y es el que con mayor frecuencia se utiliza en investigaciones epidemiológicas de infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa* y que está al alcance de cualquier laboratorio de Bacteriología, debido a lo simple del método y a que además posee un alto grado de confiabilidad como para tener valor en este tipo de estudio. Usada en combinación con la serotipia ofrece sus mejores resultados. Esta técnica está basada bien en la investigación de producción de pyocinas por parte de una cepa de *Pseudomonas aeruginosa*, o a la inversa, en investigar la sensibilidad de ésta última frente a un set estándar de pyocinas (7, 9, 37, 39, 49, 50, 55, 56).

En el presente trabajo quisimos estudiar algunos aspectos bacteriológicos y epidemiológicos de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas en diferentes muestras clínicas en nuestro medio.

## MATERIALES Y METODOS:

El material estuvo constituido por 45 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas a partir de diversas muestras clínicas procesadas en la Sección de Bacteriología del Hospital Central "Doctor Urquizaona" de

Maracaibo, donde una vez tomada la muestra correspondiente esta fue procesada siguiendo la metodología convencional hasta identificar la cepa, esta nos fue enviada para su posterior estudio. Para comprobar que esta cepa era *Pseudomonas aeruginosa*, se procedió a sembrar un tubo conteniendo el medio TSI (triple azúcar hierro), este se incubó durante 18-24 horas a 35-37°C, si el TSI mostraba cambios compatibles con *Pseudomonas*, este era sometido a la identificación bioquímica según la siguiente metodología: A cada una de las cepas se les practicó la prueba de la oxidasa según el método de Kovacs (33), se examinó su motilidad al microscopio entre lámina y laminilla (2) se le investigó la producción de pigmento fluorescente sembrándola en un tubo conteniendo el medio *Pseudomonas* agar F y *Pseudomonas* agar P (Difco) (32), el cual se incubó durante 18-24 horas a 35-37°C y luego se examinó con una lámpara de luz ultravioleta para observar la fluorescencia; los cultivos negativos fueron dejados a la temperatura del laboratorio, para ser examinados diariamente por un período hasta de una semana.

Igualmente a cada una de las cepas se les investigó la vía de ataque de los glúcidos, utilizando el medio OF, según la técnica de Hugh y Leifson (31) y las reacciones en el medio de Sellers (45).

#### *Susceptibilidad y Resistencia a 4 agentes antimicrobianos:*

A todas las cepas se les practicó prueba de susceptibilidad a 4 antimicrobianos: Amikacina, Tobramicina, Colimicina y Sisomicina, según el método del disco único de alta potencia de acuerdo a los criterios establecidos por Bawer y Kirby (5). El medio empleado es Mueller Hinton y el inóculo utilizado proviene de un Caldo Cerebro Corazón el cual es sembrado e incubado durante 4-18 horas y diluido en solución salina fisiológica hasta alcanzar una turbidez comparable al estándar No. 0.5 de Mac Farland. Este equivale a una concentración de aproximadamente  $10^8$  microorganismos/ml. El estándar se prepara adicionando 0.5 ml. de  $BaCl_2$  a 99.5 ml. de  $H_2SO_4$  al 1% v/v. Este patrón es preparado mensualmente y repartidos en tubos idénticos a los empleados para efectuar la dilución.

Para efectuar la determinación del patrón de susceptibilidad y resistencia, se utilizaron discos con una potencia de 10 µgr de Colimicina, Tobramicina, Sisomicina y Amikacina, considerándose como sensibles aquellas cepas con halos de inhibición igual o mayor de 11 mm. para Colimicina y 14 mm. o más para el resto de los antimicrobianos investigados.

## Pyocinotipia:

A todas las 45 cepas identificadas con *Pseudomonas aeruginosa*, les fue practicada la pyocinotipia, según la siguiente sistemática.

—Para la pyocinotipia se utilizó un set de 8 cepas de *Pseudomonas aeruginosa*, las cuales fueron numeradas del 1 al 8 y estas fueron obtenidas por cortesía del Dr. Alfredo Villalobos de la Cátedra de Microbiología de la Facultad de Medicina de la Universidad del Zulia y las cuales corresponden a las utilizadas por Guilles y Govan (24, 25).

—Las cepas a practicarles la pyocinotipia fueron sembradas en agar cerebro corazón (BBL), al cual se le agrega sangre humana a una concentración final del 6%. Las cepas indicadoras se siembran en caldo cerebro corazón (BBL).

—La técnica empleada para la pyocinotipia es la descrita por Guilles y Govan (24, 25) con una ligera variante en cuanto al medio de cultivo, ya que ellos utilizaron para el crecimiento de las cepas productoras de pyocinas el T.S.B.A. (Oxoid) adicionado con sangre de caballo, mientras que en este estudio el medio base es el agar cerebro corazón (BBL) el cual se le añade sangre humana a la concentración del 6%.

—La cepa de *Pseudomonas aeruginosa* a ser tipada es sembrada diametralmente a lo largo de la superficie de una placa de agar sangre, en tal forma que el inóculo tenga un ancho aproximadamente de 1 cm. El inóculo utilizado es de aproximadamente  $1 \times 10^8$  bacterias/ml. La placa es luego incubada a 32°C durante 14-18 horas. El crecimiento macroscópico es removido con una lámina portaobjetos y el remanente del crecimiento microscópico es destruido colocando 3-5 ml. de cloroformo ( $\text{CHCl}_3$ ) en la tapa de la placa de Petri, la cual es inmediatamente ensamblada con la porción de la placa que contiene el medio. Después de 15 minutos la placa es abierta y el cloroformo es decantado. Las trazas de vapores del cloroformo son eliminadas de la placa de cultivo, exponiéndola al aire durante algunos minutos.

—Cultivos de 4-6 horas de incubación a 37°C de las cepas indicadoras son sembradas formando ángulos rectos con la línea del inóculo original, pasando por encima de esta, 5 cepas son sembradas del lado izquierdo de la línea y las otras 3 cepas son sembradas del lado derecho. La placa es incubada a 37°C durante 8-18 horas. El inóculo utilizado es de aproximadamente  $1 \times 10^8$  bacterias/ml., si el inóculo original produce alguna pyocina, esta difunde en el medio durante el primer período de incubación, ejerciendo luego su acción inhibitoria sobre las cepas indicadoras durante el

segundo período. Las cepas son clasificadas de acuerdo al patrón de inhibición de las cepas indicadoras, utilizando la Tabla No. 1, en la cual aparecen los 37 diferentes tipos de pyocina de *Pseudomonas aeruginosa* reconocidos hasta el presente (24, 25).

#### *Serotipia:*

A todas las 45 cepas de *Pseudomonas aeruginosa* aisladas se les practicó la serotipia, siguiendo la técnica de Habs, completada por el Sub-Comité Internacional de Pseudomonas, utilizando antisueros comerciales elaborados por el Instituto Pasteur de París (27). Según esta clasificación existen 16 serogrupos antigénicos numerados del 1 al 16.

El equipo consta de 4 polivalentes designados con las letras A, C, E, F y sus respectivos monovalentes, como se puede apreciar en la Tabla No. 2.

Cada cepa en estudio fue sembrada en un tubo conteniendo agar nutritivo e incubada a 37°C durante 16-24 horas, después de lo cual se preparó en una lámina portaobjeto, una suspensión bacteriana homogénea con una gota de cada uno de los antisueros polivalentes mencionados. El criterio de lectura para las reacciones positivas, fue la aparición en pocos minutos de una fina y regular aglutinación, la cual se distingue muy fácilmente de los fragmentos de colonias bacterianas mal emulsionadas, eventualmente presentes. Si la cepa aglutinaba con alguno de los antisueros polivalentes, la misma era probada con cada uno de los antisueros específicos que entran en la composición de dicho polivalente.

Las cepas que no mostraron aglutinación con los antisueros polivalentes o que luego de haber aglutinado con los mismos no aglutinaron los respectivos monovalentes, fueron sembrados nuevamente en agar nutritivo e incubadas en las mismas condiciones y tiempo mencionadas, efectuándose posteriormente del crecimiento obtenido en la superficie de dicho medio, una suspensión espesa en agua destilada; esta suspensión fue calentada en autoclave a 120°C durante 30 minutos, luego se centrifugó durante 15 minutos, se decantó el sobrenadante, repitiéndose con el sedimento la prueba de aglutinación en la misma forma ya mencionada anteriormente. Se incluyó en cada prueba un control con solución salina, para descartar aquellas cepas autoaglutinantes.

### RESULTADOS:

En la Tabla Nº 1 aparecen los diferentes tipos de muestra clínicas a partir de las cuales fue aislada *Pseudomonas aeruginosa* en los 45 pacientes objeto

**TABLA Nº 1**  
**PSEUDOMONAS AERUGINOSA**  
**SITIOS DE AISLAMIENTO ANALISIS PORCENTUAL**  
**MARACAIBO 1980 - 1983**

TIPO DE MUESTRA	Nº.	%
HERIDAS	15	33.34
ORINA	9	20.00
SECRECION ULCERAS	5	11.12
ABSCEOS	6	13.33
GLERAS	3	6.67
ESCARAS	2	4.44
EXUDADO FARINGEO	1	2.22
LIQUIDO PERITONEAL	1	2.22
ESPUTO	1	2.22
SECRECION URETRAL	1	2.22
SECRECION VAGINAL	1	2.22
TOTAL	45	100.00

F. de M: HOSPITAL CENTRAL "DR. URQUINAONA"

de este estudio, observándose que el mayor número y por tanto el mayor porcentaje fue aislada a partir de heridas con un 33.34% y orina con un 20%, siguiéndole en orden de frecuencia secreción de úlceras con un 11,12%, abscesos 13.33%, gleras 6.67%, escaras 4.44%, exudado faríngeo, líquido peritoneal, esputo, secreción uretral y vaginal, con un 2.22% cada una.

En la Tabla No. 2 se muestran los patrones de susceptibilidad y resistencia a las cepas estudiadas a 4 antibióticos, en ella observamos que el 100% de las cepas se mostraron sensibles a: Amikacina y Colimicina, mientras que sólo el 86.67% se mostraron sensibles a la Tobramicina y Sisomicina.

TABLA Nº 2  
PSEUDOMONAS AERUGINOSA  
SENSIBILIDAD A CUATRO AGENTES ANTIMICROBIANOS  
ANÁLISIS PORCENTUAL. MARACAIBO 1980-1983

ANTIMICROBIANO	SENSIBLES		RESISTENTES	
	Nº.	%	Nº.	%
AMIKACINA	45	100.00	—	—
TOBRAMICINA	39	86.67	6	13.33
COLIMICINA	45	100.00	—	—
SISOMICINA	39	86.67	6	13.33

F. de M; HOSPITAL CENTRAL " DR. URQUINAONA "



El estudio de la pyocinotipia de las 45 cepas investigadas, revelan la existencia de ocho pyocinotipos diferentes, lo cual se muestra en la Tabla No. 3; con la metodología utilizada fue posible lograr el tipiaje del 86,67% de las cepas. La mayoría de las cepas correspondieron al pyocinotipo 1 (31.11%) al 10 (24.45%) y al 9 (11.11%) respectivamente, siguiéndoles en orden de frecuencia el 5 (8.89%) el 31 (4.45%). Sólo se encontró una cepa correspondiente a los pyocinotipos 3, 17 y 2 con un 2.22% cada una de ellas. El 13,33% de las cepas resultaron no tipiables por este método.

TABLA Nº 3  
PSEUDOMONAS AERUGINOSA  
PYOCINOTIPOS ENCONTRADOS EN NUESTRO ESTUDIO  
ANALISIS PORCENTUAL. MARACAIBO 1980-1983

PYOCINOTIPOS	Nº. CEPAS	%
1	14	31. 11
10	11	24. 45
8	5	11. 11
5	4	8. 89
31	2	4. 45
3	1	2. 22
17	1	2. 22
2	1	2. 22
NT	6	13. 33
TOTAL	45	100. 00

F. de M; HOSPITAL CENTRAL "DR. URQUINAONA"

La Tabla No. 4 muestra la distribución de los pyocinotipos de acuerdo al tipo de muestra, observándose que en heridas el pyocinotipo 1 fue el más frecuentemente encontrado. En este tipo de muestra le siguen en frecuencia los pyocinotipos 10, 9, 31 y 2.

En orina 4 (44.44%) de las cepas no pudieron ser tipadas por este método y las otras cinco cepas aisladas a partir de esta muestra correspondieron tres al pyocinotipo 5, una al 9 y una al 17.

**TABLA Nº 4**  
**PSEUDOMONAS AERUGINOSA**  
**DISTRIBUCION DE PYOCINOTIPOS DE ACUERDO AL TIPO DE MUESTRA**  
**MARACAIBO 1980-1983**

TIPO DE MUESTRA	PYOCINOTIPOS									TOTAL
	1	10	9	5	31	3	17	2	NT	
HERIDAS	7	3	3	--	1	--	--	1	--	15
ORINA	--	--	1	3	--	--	1	--	4	9
ULCERAS	3	1	--	--	--	--	--	--	1	5
ABSCESOS	1	3	--	--	1	--	--	--	1	6
GLERAS	2	--	1	--	--	--	--	--	--	3
ESCARAS	--	1	--	--	--	1	--	--	--	2
EXUDADO FARINGEO	--	1	--	--	--	--	--	--	--	1
ESPUTO	--	--	--	1	--	--	--	--	--	1
LIQUIDO PERITONEAL	--	1	--	--	--	--	--	--	--	1
SECRECION URETRAL	1	--	--	--	--	--	--	--	--	1
SECRECION VAGINAL	--	1	--	--	--	--	--	--	--	1
TOTAL	14	11	5	4	2	1	1	1	6	45

F. de M: HOSPITAL CENTRAL "DR. URQUINAONA"

De las cinco cepas aisladas a partir de úlceras, tres correspondieron al pyocinotipo 1, y una al 10 y una resultó no tipiable.

De las seis cepas aisladas a partir de abscesos fue posible tipiar cinco de ellas y de estas tres correspondieron al pyocinotipo 10, una al 1 y una al 31.

Las cepas aisladas a partir de gleras dos correspondieron al pyocinotipo 1 y una al 9.

**TABLA Nº 5**  
**PSEUDOMONAS AERUGINOSA**  
**SEROTIPOS ENCONTRADOS EN NUESTRO ESTUDIO**  
**ANALISIS PORCENTUAL. MARACAIBO 1980-1983**

SEROTIPOS	Nº CEPAS	%
11	13	28. 88
3	10	22. 22
4	5	11. 11
1	3	6. 66
6	2	4. 46
14	2	4. 46
5	1	2. 22
10	1	2. 22
12	1	2. 22
16	1	2. 22
NT	6	13. 33
TOTAL	45	100. 00

F. de M: HOSPITAL CENTRAL "DR. URQUINAONA"

De las cepas aisladas de escaras, una correspondió al pyocinotipo 10 y la otra al 3.

En los otros tipos de muestras cuyo número de cepas aislados fue solamente una, estas correspondieron a los pyocinotipos 10, 1 y 5 respectivamente.

La Tabla No. 5 muestra la frecuencia de los diferentes serotipos encontrados en el presente estudio, en ella observamos que el 28.88% de las cepas correspondieron al serotipo 11, siguiéndole en orden de frecuencia el serotipo 3 con un 22.22%, el 4 (11.11%), el 1 (6.66%) y el 6 y 14 (4.46%) y el 5, 10, 12 y 16 con un 2.22% cada una. El 13.33% de las cepas resultaron no tipiables por este método.

En la Tabla No. 6 se detalla la frecuencia de los diferentes serotipos contados, de acuerdo al tipo de muestra, observándose que en heridas los serotipos más frecuentemente encontrados fueron el 3 y el 11, siguiéndole en orden de frecuencia el 14, 6 y 16. En esta muestra tres cepas no pudieron ser tipiables por este método.

De las cepas aisladas de orina, cinco correspondieron al serotipo 3, y las restantes correspondieron a los serotipos 4, 10, 11 y 12 respectivamente.

De las cinco cepas aisladas de úlceras, cuatro correspondieron al serotipo 11 y una resultó no tipiable.

De las seis cepas aisladas de abscesos, cinco resultaron tipiables y tres de ellas correspondieron al serotipo 11, una al 1 y una al 4.

De las tres cepas aisladas de gleras, una correspondió al serotipo 3, una al 5 y una al 11.

De las cepas aisladas de escaras, una correspondió al serotipo 4 y la otra al serotipo 6.

En los otros tipos de muestras donde solamente se aisló una cepa en cada una de ellas, dos correspondieron al serotipo 1, dos al 4 y una no pudo ser tipiada por este método.

En la Tabla No. 7 se muestra la correlación de la pyocinotipia y serotipia en ella observamos que las seis cepas que no pudieron ser tipiadas con la serotipia, todas correspondieron al pyocinotipo 1 (13.33%).

Las tres cepas serotipo 1 correspondieron a los pyocinotipos 5, 10 y 31.

De las diez cepas que correspondieron al serotipo 3, cinco correspondieron al pyocinotipo 9, tres al 5 y uno al 31, resultando una no tipiable por este último método.

De las cepas pertenecientes al serotipo 4, tres correspondieron al pyocinotipo 10 y dos resultaron no tipiables por pyocinotipia.

TABLA Nº 6  
 PSEUDOMONAS AERUGINOSA  
 DISTRIBUCION DE SEROTIPOS DE ACUERDO AL TIPO DE MUESTRA  
 MARACAIBO 1980-1983

TIPO DE MUESTRA	SEROTIPOS															TOTAL	
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15		16
HERIDAS	-	-	4	-	-	1	-	-	-	-	4	-	2	-	1	3	15
ORINA	-	-	5	1	-	-	-	-	-	1	1	1	-	-	-	-	9
ULCERAS	-	-	-	-	-	-	-	-	-	4	-	-	-	-	-	1	5
ABSCESOS	1	-	-	1	-	-	-	-	-	-	3	-	-	-	-	1	6
GLERAS	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	1	-	-	-	-	-	3
ESCARAS	-	-	-	1	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	2
EXUDADO FARINGEO	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
ESPUTO	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
LIQUIDO PERITONEAL	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
SECRECION URETRAL	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1	1
SECRECION VAGINAL	1	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	1
TOTAL	3	-	10	5	1	2	-	-	-	1	13	1	2	-	1	6	45

TABLA Nº 7  
PSEUDOMONAS AERUGINOSA  
CORRESPONDENCIA DEL PYOCINOTIPO Y SEROTIPO  
MARACAIBO 1980-1983

SEROTIPOS	PYOCINOTIPOS										TOTAL	%
	NT	1	2	3	5	9	10	17	31			
NT	--	6	--	--	--	--	--	--	--	--	6	13.33
1	--	--	--	--	1	--	1	--	1		3	6.66
3	1	--	--	--	3	5	--	--	1		10	22.22
4	2	--	--	--	--	--	3	--	--		5	11.11
5	--	1	--	--	--	--	--	--	--		1	2.22
6	--	--	--	1	--	--	1	--	--		2	4.44
10	1	--	--	--	--	--	--	--	--		1	2.22
11	1	5	--	--	--	--	6	1	--		13	28.88
12	1	--	--	--	--	--	--	--	--		1	2.22
14	--	1	1	--	--	--	--	--	--		2	4.46
16	--	1	--	--	--	--	--	--	--		1	2.22
TOTAL	6	14	1	1	4	5	11	1	2		45	100.00

F. de M: HOSPITAL CENTRAL "DR. URQUINAONA"

La cepa correspondiente al serotipo 5 correspondió al pyocinotipo 1.

De las dos cepas de serotipo 6, una correspondió al pyocinotipo 3 y otra al 10.

La cepa correspondiente al serotipo 10 resultó no tipiable por pyocinotipia.

De las trece cepas pertenecientes al serotipo 11, seis resultaron ser pyocinotipo 10, cinco del 1, una del 17 y una resultó no pyocinotipiable.

La cepa correspondiente al serotipo 12, resultó no pyocinotipiable.

De las dos cepas correspondientes al serotipo 14, una resultó del pyocinotipo 1 y otra del 2.

La cepa perteneciente al serotipo 16, correspondió al pyocinotipo 1.

## DISCUSION:

Dada la frecuencia con que se presentan las infecciones causadas por *Pseudomonas aeruginosa* en nuestro medio, sobre todo en pacientes hospitalizados, quisimos estudiar algunos aspectos bacteriológicos y epidemiológicos en 45 cepas aisladas de diferentes muestras clínicas. El propósito de nuestro trabajo fue no sólo el estudiar algunos aspectos que nos permitan con bastante precisión identificar este microorganismo en el laboratorio, sino también conocer el origen de las infecciones ocasionadas por él, y como se disemina la misma en el medio hospitalario; además quisimos conocer los patrones de sensibilidad y resistencia a 4 agentes antimicrobianos.

En el presente estudio observamos que este germen se aisló con mayor frecuencia a partir de heridas, orina y secreción de abscesos y úlceras, resultados estos que son similares a los encontrados por otros autores (30), pero difieren de los encontrados por Villalobos y Cols. en nuestro medio (56), ya que para estos últimos exudado faringeo es la muestra a partir de la cual es mayormente aislado dicho microorganismo.

En relación con el comportamiento de estas cepas ante 4 antimicrobianos, observamos que Amikacina y Colimicina representaron las de mayor efectividad "in vitro", mientras que con Tobramicina y Sisomicina observamos un 13.33% de resistencia. Los hallazgos encontrados con Colimicina son similares a los observados por otros autores en nuestro medio (35). En relación con Tobramicina nosotros encontramos un 13.33% de resistencia, a diferencia de Lugo y Cols. (35) y Gallegos y cols. (22), quienes encontraron un 100% y un 95% de sensibilidad a este antibiótico en las cepas por ellos estudiadas.

Es de hacer notar que de las seis cepas estudiadas que resultaron resistentes a Tobramicina y Sisomicina, cuatro correspondieron al serotipo 11 (65%), una al serotipo 12, y una resultó no tipiable con la metodología utilizada por nosotros, estos hallazgos son muy similares a los encontrados por Dulong y cols. (15), con la diferencia de que ellos estudiaron un número mayor de antibióticos.

El estudio de la pyocinotipia de estas 45 cepas, reveló que el pyocinotipo 1 fue más frecuentemente encontrado, lo cual concuerda con los hallazgos reportados por varios autores (24, 25, 39, 55, 56). Al mismo tiempo vemos que el pyocinotipo 10 ocupó el segundo lugar en el orden de frecuencia en las cepas estudiadas, hallazgos estos encontrados también por algunos de los autores arriba mencionados (39, 55, 56).

En lo que se refiere al pyocinotipo 3, en trabajos realizados en nuestro medio, este ocupó el tercer lugar (39, 55, 56) mientras que en el presente trabajo pasó a ocupar el sexto lugar con un 2,22% de frecuencia y el tercer lugar fue ocupado por cepas pertenecientes al serotipo 9, el cual en otros estudios realizados en nuestro medio no había sido encontrado por ninguno de los que trabajan en este campo, siguiéndole en orden de frecuencia el 5 y el 31, los cuales tampoco habían sido encontrados por ninguno de los autores consultados.

En cuanto a las cepas no tipiables, los resultados del presente trabajo, coinciden con los de Guillies y Govan (24, 25) quienes obtienen un 13-20% y con los de Villalobos y cols. (55, 56) quienes al igual que nosotros encontraron un 13% de cepas no tipiables por pyocinotipia.

Por su simplicidad, compartimos con Villalobos y cols. (55, 56) y con Guillies y Govan (24, 25), la opinión de que la pyocinotipia en el método mas adecuado para ser utilizado en nuestro medio, ya que el mismo no requiere de material especial y está al alcance de los laboratorios de Bacteriología, aun de aquellos equipados deficientemente.

El otro marcador epidemiológico investigado en todas las cepas fue la serotipia.

El porcentaje de cepas tipiables según el método utilizado fue del 86,67%, lo cual coincide con los hallazgos obtenidos por Urbina-Hernández y Cols. (53, 54) cuando practicaron la serotipia de cepas de *Pseudomonas aeruginosa* implicada en bacteriurias significativa en nuestro medio, pero difiere de los hallazgos de estos mismos autores cuando estudiaron cepas provenientes de muestras del tracto respiratorio y donde ellos pudieron tipiar



el 100% de las cepas empleando en ambos casos la misma metodología empleada en el presente estudio.

El serotipo mas frecuentemente encontrado fue el 11, lo cual coincide con los hallagos de Urbina-Hernández y Cols. (53, 54), cuando serotiparon cepas provenientes del tracto respiratorio, pero difieren de los encontrados por estos mismos autores, cuando estudiaron cepas a partir de orina y en donde ellos encontraron a los serotipos 4 y 6 como los de mayor prevalencia.

La incidencia de los otros serotipos en este estudio difieren de los reportados por Urbina-Hernández y cols. (53, 54) ya que nosotros encontramos en segundo lugar el serotipo 3, siguiéndole en orden de frecuencia el 4, 1, 6, 14, etc. Consideramos que en ambos casos la diferencia podría deberse al tipo de muestra de donde proceden las cepas estudiadas por esos autores, ya que ellos estudiaron únicamente cepas provenientes del tracto respiratorio y tracto urinario, mientras que nuestras cepas provenían de diversas y variadas muestras.

Cuando comparamos nuestros resultados de serotipia de las cepas provenientes de orina con los observados por Urbina-Hernández y cols. (53, 54), nos encontramos con la prevalencia del serotipo 1 en cinco cepas de un total de 9, a diferencia de los autores mencionados, quienes encontraron con mayor frecuencia los serotipos 4 y 6.

En cuanto al tracto respiratorio no encontramos sino solamente una cepa del serotipo 11, lo cual difiere de los mismos autores (53, 54), quienes encontraron una prevalencia del 30.98% de este serotipo.

Al realizar la serotipia de las cepas nos encontramos con seis de ellas que no resultaron tipiables con la técnica utilizada, pero cuando practicamos la pyocinotipia a todas estas seis cepas se les pudo tipiar por este método, perteneciendo todas ellas al pyocinotipo 1. Estos resultados nos demuestran una vez mas la posible correlación entre ciertos serotipos y pyocinotipos, lo cual ya ha sido demostrado por otros autores (8, 13, 57).

Al analizar nuestros resultados, compartimos con Homma y cols. (29) que la serotipia, usando bacterias vivas con antígeno es un método confiable para dilucidar el origen de las infecciones nosocomiales ocasionadas por *Pseudomonas aeruginosa* y que usada en combinación con la pyocinotipia nos permitirá aun más la clarificación de estas infecciones.

#### CONCLUSIONES:

1. La pyocinotipia es el método mas adecuado para ser utilizado en nuestro medio, ya que no requiere de material especial.

2. La serotipia usando bacterias vivas como antígeno es un método confiable para dilucidar el origen de las infecciones nosocomiales.

3. La serotipia usada en combinación con la pyocinotipia permite el tipaje del 100% de las cepas.

#### LITERATURA CITADA:

1. Alexander, J., FISHER, M.: Immunization against *Pseudomonas* in infection after thermal injury. *The Journal Infections Disease*. 130:S152-S158, 1978.
2. American Public Health Association. Committee on Laboratory Methods. Diagnostic Procedures for bacterial mycotic and parasitic infections. Howard L. Bodily, ed. 5ed. New York. The Association, 1970.
3. AYLIFFE, G., LOWBURY, E., HAMILTON, J., SMALL, J., ASHEHOV, E.: PAKER, M.: Hospital infection with *Pseudomonas aeruginosa* in enurosurgery. *The Lancet*. 2:365-368, 1965.
4. BASSET, D., THOMPSON, S., PAGE, B.: Neonatal infections with *Pseudomonas aeruginosa* associated with contaminated resuscitation equipment. *The Lancet*. 1:781-784, 1965.
5. BAWER, A., KIRBY, W., SHERRIS, J.: TRUCK, M.: Antibiotic susceptibility testing by standardized single disk method. *The American Journal of Clinical Pathology*. 45:493-496, 1966.
6. BENNETT, J.: Nosocomial infections due to *Pseudomonas*. *The Journal Infections Diseases*. 130:S4-S7. 1974.
7. BERGAN, T.: Epidemiological markers for *Pseudomonas aeruginosa* 1-Serogrouping pyocine typing and their inter relations. *Archives Roumaines Pathologie Experimentale et De Microbiologie*. 81:70-80, 1973.
8. BERGAN, T.: Epidemiological markers for *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives Roumaines Pathologie Experimentale et De Microbiologie*. 81:95-100, 1973.
9. BERGAN, T., HORBY, N.: Epidemiological markers for *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives Roumaines Pathologie Experimentale et De Microbiologie*. 83:553-560, 1975.
10. BERGAN, T., MIDTVEDT, T.: Epidemiological markers for *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives Roumaines Pathologie Experimentale et De Microbiologie*. 83:1-9, 1975.
11. BERGAN, T., GYLLEMBERG, H.: Epidemiological markers for *Pseudomonas aeruginosa*. *Archives Roumaines Pathologie Experimentale et De Microbiologie*. 3:257-274, 1975.
12. BOCANEGRA, M., HINESTROZA, F., BAZON, A., VELARDE, N., YOZA, V., ROSENTHAL, S.: Convalescent burn plasma therapy for severely burned children control study of 81 cases and test for *Pseudomonas* antibodies. *Annals of Surgery*. 163:461-479, 1966.

13. CSISZAR, K., LANYI, B.: Pyocine typing of *Pseudomonas aeruginosa*: association between antigenic structure and pyocine type. *Acta Microbiologica Academiae Scientiarum Hungaricae*. 17:361-370, 1970.
14. DREWETT, S., PAYNE, J., TUKE, W., VERDON, P.: Erradication of *Pseudomonas aeruginosa* infection from a special case nursery. *The Lancet*. 1:946-948, 1972.
15. DULONG, H., GRIMONT, P., DESSANT, B., LESGOUARRES, M.: Comparative in vitro activity of Tobramycin, Gentamicin, Kanamycin, Colistin, Carbenicillin and Ticarcillin on clinical Isolates of *Pseudomonas aeruginosa*: Epidemiological and Therapeutic Implication. *The Journal of Infections Diseases*. 134:50-56, 1976.
16. FARMER III, J., HERMAN, L.: Epidemiological fingerprinting of *Pseudomonas aeruginosa* by production of and sensitivity to pyocin and bacteriophage. *Applied Microbiology*. 18:760-764, 1969.
17. FERNANDEZ, H.: Tipificación serológica de *Pseudomonas aeruginosa*. *Revista Médica de Chile*. 106-41-43, 1978.
18. FIERRER, J., TAYLOR, P., GEZON, H.: *Pseudomonas aeruginosa* epidemic traced to delivery-room resuscitators. *New England Journal of Medicine*. 276:991-996, 1967.
19. FINLAND, M.: Changing ecology of bacterial infection as related to antimicrobial therapy. *The Journal Infections Diseases*. 122:419-431, 1970.
20. FINLAND, M., JONES, W., BARNES, M.: Occurrence of serious bacterial infections since introduction of antibacterial agents, *The Journal of the American Medical Association*. 170:2188-2190, 1959.
21. FISHER, M.: Development of immunotherapy for infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. *The Journal Infections Diseases*. 130:S149-S151, 1974.
22. GALLEGOS, B., PAZ, E., VILLALOBOS, A., VILLALOBOS-ROLDAN, A., LUGO, L.: Patrón de susceptibilidad y resistencia de cepas de *Pseudomonas*. *Kasmera*. 9:(1-4):49-66, 1981.
23. GARDNER, P., GRIFFING, A., SHARTZ, M., KUNZ, L.: Nonfermentative Gram-negative bacilli of nosocomial interest. *The American Journal of Medicine*. 48:735-749, 1970.
24. GILLIES, R., GOVAN, J.: Typing of *Pseudomonas pyocianea* by pyocine production. *Journal Pathology and Bacteriology*. 91:339-345, 1966.
25. GOVAN, J., GILLIES, R.: Further studies in the pyocine typing of *Pseudomonas pyocianea*. *Journal of Medical*. 2:17-26, 1969.
26. GRABER, Ch., LATTA, A., VOGEL, E., BRAME, R.: Bacteriophage grouping of *Pseudomonas aeruginosa* with special emphasis on lysotypes occurring in infected burns. *The American Journal of Clinical Pathology*. 37:54-62, 1962.
27. HABS, I.: Untersuchungen über die O-antigene von *Pseudomonas aeruginosa*. *Zeitschr Hyg. Infekt-Kr.* 144:218-228. 1957.
28. HOLMES, R., MINSHEW, B., SANFORD, J.: Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* to Aminoglycoside Antibiotics. *The Journal of Infections Diseases*. 130:S163-S166, 1974.

29. HOMMA, J., GHODA, E., GOTO, S., JO, K., KATO, I., KODAMA, H., HOSAKAY, N., KONO, M., SHIONOYA, H., TERADA, Y., TOMIYAMA, T., YABUUCHI, E.: Proposal of an International standard for the infraspecific serologic classification of *Pseudomonas aeruginosa*. *The Japanese Journal of Experimental Medicine*. 49:89-94, 1979.
30. HUGH, R., GILARDI, G.: *Pseudomonas*. En: LENNETTE, E., SPAULDING E., TRUANT, J., eds.: *Manual de Microbiología Clínica*. Washington: American Society for Microbiology, 1974, pp. 250-269.
31. HUGH, R., LEIFSON: The taxonomic significance of fermentative versus oxidative metabolism of carbohydrates by various Gram negative bacteria. *Journal of Bacteriology*. 66:24-26, 1953.
32. KING, E., WARD, M., RANEY, D.: Two simple media for the demonstration of pyocyanin and fluorescin. *Journal and Clinical Medicine*. 44:301-307, 1954.
33. KOVACS, N.: Identification of *Pseudomonas pyocyanea* by the oxidase reaction. *NATURE*. (London), 178-703, 1956.
34. LOWBURY, E., KIDSON, A., LILLY, H., AYLIFFE, G., JONES, R.: Sensitivity of *Pseudomonas aeruginosa* to antibiotics: Emergence of strains highly resistant to Carbenicillin. *The Lancet*. 2:448-452, 1969.
35. LUGO, L., VILLALOBOS, A.: Presencia de *Pseudomonas aeruginosa* en materiales y ambientes del Hospital Universitario de Maracaibo. *Revista de la Facultad de Medicina*. 9(1-4):35-40, 1977.
36. MURRAY, B., MOELLERING, R.: Patterns and Mechanisms of antibiotic resistance. *Medical Clinics of North America*. 62:899-923, 1978.
37. MUSHIN, R., TAGG, J.: Pyocine typing as an epidemiological marker in *Pseudomonas aeruginosa* in cattle. *Journal of Hygiene*. (London) 69:171-174, 1971.
38. PASETTO, D., PECHMANN, C., SCRASSOLO, A., BRUNO, B.: Nursery outbreak of severe diarrhoea due to multiple strains of *Pseudomonas aeruginosa*. *The Lancet*. 2:38-40, 1972.
39. PAZ, E., VILLALOBOS, A., LUGO, L., VILLASMIL, M.: Pyocinotipia de *Pseudomonas aeruginosa* en un Hospital General de la localidad. *Kasmera*. 5:229-249, 1976.
40. PRUITT, B., Infections caused by *Pseudomonas* species in patient with burns and in other surgical patients. *The Journal Infections Diseases*. 130:S8-S13, 1974.
41. RABIN, C., GRABER, L., VOGEL, C., FINKELSTEIN, C., TUMBUSCH, L.: Fatal *Pseudomonas* infection in burned patients. A Clinical, Bacteriologic and anatomic study. *The New England Journal of Medicine*. 265:1225-1231, 1961.
42. ROGERS, D.: The changing of life-threatening microbial disease. *New England Journal of Medicine*. 261:677, 1959.
43. ROSEM, H., BABCOCK, J., HECKMAN, M.: Subtyping of pyocin type 1 *Pseudomonas aeruginosa* one year of experience. *Applied Microbiology*. 22:475, 1975.
44. SCHIMPF, S., GREENE, W., YOUNG, V., WIERMCK, P.: Significance of *Pseudomonas aeruginosa* in the patient with leukemia or lymphoma. *The Journal Infections Disease*. 130:S24-S31, 1974.

45. SELLERS, W.: Medium for differentiating the Gram negative, non fermenting bacilli of medical interest. *Journal of Bacteriology*. 87:47-48, 1964.
46. SUTTER, V., HURST, V.: Sources of *Pseudomonas aeruginosa* infection in burns: Study of wound and rectal cultures with phage typing. *Annals of Surgery*. 163:587-602, 1966.
47. SUTTER, V., VALERIE, H., FENNELL, J.: A standardized system for phage typing *Pseudomonas aeruginosa*. *Health Laboratory Science* 2:7-16, 1965.
48. TAPPER, M., ARMSTRONG, D.: Bacteremia due to *Pseudomonas aeruginosa* complicating neoplastic disease: A progress report. *The Journal Infectious Diseases*. 130:S14-S23, 1974.
49. THOMAS, E., JONES, L., SIMAO, E., SOLE-VERNIN, C., FERMER III, J.: epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* in a General Hospital: A four year study. *Journal of Clinical Microbiology*. 2:397-402, 1975.
50. TINNE, J., GORDON, A., BRAIN, W., MACKEY, W.: Cross-infection by *Pseudomonas aeruginosa* as a hazard of intensive surgery. *British Medical Journal*. 4:313-315, 1967.
51. TOP, F.: *Control de enfermedades infecciosas en Hospitales generales*. Washington: OPS, 1970, pp. 98 (OPS Publicación Científica, 1970).
52. URBINA-HERNANDEZ, M., VILLALOBOS, A., LLERAS-TORRES, A.: Bacilos Gram negativos no Fermentadores: Incidencia en el Hospital Universitario de Maracaibo. Susceptibilidad a los agentes antimicrobianos. *Revista de la Facultad de Medicina*. 9:48-56, 1977.
53. URBINA-HERNANDEZ, M., VILLALOBOS-ROLDAN, A., VILLALOBOS, A., HERNANDEZ, C., ALVAREZ, O., MATOS, N.: Serotipia de *Pseudomonas aeruginosa* a partir de muestras del tracto respiratorio. *Kasmera*. 13(1-4): 76-86, 1985.
54. URBINA-HERNANDEZ, M., VILLALOBOS-ROLDAN, A., VILLALOBOS, A.: Serotipos de *Pseudomonas* mas frecuentemente implicados en bacteriurias significativas en nuestro medio. *Kasmera*. 13(1-4), 87-97, 1985.
55. VILLALOBOS, A., VILLALOBOS-ROLDAN, A.: La Pyocinotipia de *Pseudomonas aeruginosa* en nuestro medio. *Revista de la Facultad de Medicina*. 6:97-107, 1973.
56. VILLALOBOS, A., VILLALOBOS-ROLDAN, A., VILLASMIL, M., URBINA-HERNANDEZ, M., FUENMAYOR-CORVAIA, I., PAZ, E., SERRANO, H., LLERAS-TORRES, A.: *Pseudomonas aeruginosa*. Aspectos bacteriológicos y serológicos. *Revista de la Facultad de Medicina*. 9:71-90, 1977.
57. WAHBA, A.: Hospital infection with *Pseudomonas pyocyanea*: An investigation by a combined pyocine and serological typing method. *British Medical Journal*. 1:86-89, 1965.
58. YOSHIOKA, H., TAKIMOTO, M., MARUYAMA, S., FURUYAMA, A., MURUYAMA, T.: Serotypes and antibiotic susceptibility of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from clinical materials in the Hokkaido University Hospital, 1967. *Journal of the Japanese Association for Infectious Diseases*. 44:340-344, 1970.
59. YOUNG, L.: Role of antibody in infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. *The Journal Infectious Diseases*. 130:S111-S118, 1974.
60. ZIERD, Ch., SCHMIDT, P.: Disociation in *Pseudomonas aeruginosa*. *Journal of Bacteriology*. 87:1003-1010, 1964.